中華農業研究（Jour. Agri. Res. China）40(1)：45～51（1991）

玉米莖腐病抗病品種之篩選方法[1]

蔡武雄　段中漢　杜金池[2]

摘要：本研究發展之玉米莖腐病（病原菌：*Pythium aphanidermatum*)抗病品種（系）之篩選方法，是將供試玉米種子播於六吋素燒陶盆中，每盆3株。於溫室中(24～36°C）長至40～45 天，株高約 1 公尺時，進行接種試驗。接種時，以每克土約含30個卵孢子之壤土加水達於飽和含水量後，塗抹在供試玉米植株的莖基部(0～10cm)，並以鋁箔包裹之，以防接種病土乾燥。將接種後之玉米置於氣溫25～35°C，相對濕度90%以上的溫室中 3天，以促其發病。再經 3天，即可記錄其罹病率。判定時，以該品種（系）玉米全部罹病倒伏者爲感病；部份罹病倒伏者爲中抗；全部未罹病者爲抗病。

關鍵詞：玉米莖腐病，抗病篩選

玉米莖腐病是由 *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp.所引起（8)。田間玉米於株高1.5～2.0公尺時最易罹病。罹病植株的莖基部，即自地表向上至第一節之間，起先出現水浸狀黑變現象；隨後，該處組織軟化，植株因而倒伏，死亡(4,6,12）。

P. aphanidermatum 爲寄主範圍甚廣之土壤傳播性植物病原菌 (7,10,19）。本菌除於幼苗期造成作物猝倒（damping－off）外，亦能使作物之成株罹病（10,20），玉米莖腐病即爲一例。本菌可以卵孢子狀態在田間表層(0～15cm）土壤中長期存活（3,16,18）。在高溫且潮溼的土壤中，卵孢子是以直接發芽的方式，形成發芽管侵入寄主組織造成感染（9,14）。病株於罹病後期會釋放大量的卵孢子至土壤中，作爲次級感染源（secondary inoculum）。在適宜的環境下，其蔓延至爲迅速（7,9,10,11,15,17,20）。

近年來，由於稻田轉作玉米發展方案之實施，本省中南部地區之玉米種植面積不斷增加。在雲、嘉地區亦陸續有莖腐病嚴重發生之報導（1）。由於玉米不同品種(系）間對本病之抗感性具程度上的差異（1,8），所以本省玉米育種人員已將莖腐病列入抗病測定之項目（2）。由於*P. aphanidermatum* 對玉米屬於弱病原菌（12,13），因此，接種時必須正確控制各項與接種有關的因子（10），始能促其發病，而此項技術正待解決。

爲建立一套標準有效的接種方法以篩選抗莖腐病之玉米品種(系)，本研究爰就玉米之接種部位，接種源濃度，接種時之溫度，玉米株齡及接種後，維持有效發病環境之期間等方面分別予以探討。最後，並將各項最適條件加以整合，以建立適切之接種方法作爲篩選抗病品種(系)之用。

材料與方法

一、菌株

自嘉義縣布袋鎮採得被 *Pythium aphanidermatum* 自然感染之玉米植株（品種：台農１號），

---

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1550 號。本研究部分經費承行政院農委會　79農建－7.1－糧－64 計畫補助，謹此誌謝。
2. 本所植病系研究員、助理及所長。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

經自來水洗淨後，拭乾，置於 2%水瓊脂 (water agar) 平板上進行分離。所得菌株經比對其特徵 (19) 並予確定後，移入10%果菜汁瓊脂 (V－8 juice agar, VJA) 斜面上。置於24 C之黑暗定溫箱中保存，每月更新培養一次，以作爲本研究之接種用菌株。

二、 接種源製備

供試菌株培養於 VJA三日後，挑取其菌絲塊移入果菜汁培養液 (V－8 juice 4%，Dist. water 96%，v／v)。培養液內並酌加 Cholesterol (40mg／ 1) 以促進卵孢子之形成 (7)。將培養液置於有間接光照之24 C培養室中。兩週後，取出已著生有大量卵孢子之病原菌菌絲塊，先以清水洗去培養液，再以均質機 (Polytron, PT10／35) 予以打碎，製成卵孢子懸浮液；並將其混入經20目網篩篩過之壤土，晾乾後製成病土，供作接種源。病土之卵孢子含量以種別專一性分離培養基 (species－specific isolation medium) (3)測定之。另視需要以相同之壤土稀釋病土之卵孢子含量。

三、接種部位

爲判定 *P. aphanidermatum* 是由根部或莖基部侵入玉米植株。取台農1號玉米種子播於六吋素燒盆中，每盆三棵。置於溫室中，待長至35天，株高 (地際至心葉尖端) 100±10cm時，進行本試驗。本試驗爲四個處理，處理一取含菌量爲每克土 3×10^4個卵孢子的病土100克均勻混拌於玉米莖基部旁之表層土 (0～5cm) ，使病土與玉米根部接觸。處理二同前，但玉米莖基部 (0～10cm) 以鋁箔包裹，以隔絕可能經澆水飛濺至莖基部之病原菌。處理三是以病土加水至飽和含水量並塗抹在玉米的莖基部(0～10cm) 。另以不含病原菌之土壤仿處理三之方式爲之，供作對照。每處理三盆。各處理之玉米均置於相對濕度100%及氣溫30～35°C之濕室中六日，移出後，調查各處理之倒伏情形，作爲其罹病率。

四、接種源濃度

爲探知接種源濃度對莖腐病罹病率之影響，取每克土含菌量爲3×10^4、3×10^3、3×10^2、及3×10^1個卵孢子的病土加水至飽和含水量後，分別塗抹於與前項試驗相同生長條件之台農1號盆栽玉米的莖基部。另以塗抹不含病原菌之土壤的處理作對照。每處理三盆。其後之處理方式及罹病率調查方法均同於前項試驗。

五、溫度

爲決定玉米莖腐病最適發病的溫度範圍，取每克土含菌量爲30個卵孢子的病土加水至飽和含水量後，塗抹至與前項試驗相同生長條件之台農1號盆栽玉米的莖基部。然後套以大型透明塑膠袋保持其潮濕。接種完畢之盆栽玉米分置於15,20,25,30,及35 C之植物生長箱 (growth chamber，Conviron) 中。箱內維持每日12小時光照 (8000 lux) 。每處理三盆。處理六日後，移出，並即調查其罹病率，其調查方法同於前項試驗。

六、株齡

爲探知玉米株齡對莖腐病抗感性之差異。取每盆三株，株齡分別爲10，20，30，40，50，及60日之台農1號及台農351號玉米供作接種。接種時，取與前項試驗相同之潮濕病土塗抹在供試玉米的莖基部。接種後之玉米移入溫度爲30～35 C，相對濕度100%的濕室中六日。再依前述之調查方法記錄其罹病率。

七、接種期間

溫、濕度是影響玉米莖腐病發生的重要條件，但維持此種條件之期間 (period) ，則是決定罹病率的關鍵因素 (6，8，11) 。爲獲知接種期間之長短對罹病率之影響，取株齡35日之台農1號盆栽玉米(每盆3株)，以潮濕病土 (每克乾土含菌量爲30個卵孢子) 塗抹其莖基部。然後置於與前項試驗相同條件之濕室中1～4日，再置於溫室中繼續觀察三日，並依前述之調查方法記錄其罹病率。

結　果

一、感染部位

將潮濕病土塗抹在供試玉米的莖基部，可使接種之玉米全部罹病死亡。相同的病土混在玉米莖基部旁之土表，亦能造成很高的罹病率；同前之處理，但在玉米莖基部裹以鋁箔者，則罹病率甚低（表一）。檢查各處理的根部，未見有受 *P. aphanidermatum* 感染的現象。由此推斷，本菌感染玉米時，主要應自其莖基部侵入。

表一、接種方法對玉米莖腐病罹病率之影響

Table 1. Effect of inoculation methods on the incidence of Pythium stalk rot of corn

Treatment[a]	Percentage of disease incidence[b]			
	I	II	III	Mean
A	100	100	67	89
B	0	0	33	11
C	100	100	100	100

[a]A:The infested soil was blent with cultivated soil at the 5cm soil depth around the tested plant. B: The infested soil was treated as A, but the basal stalk (1~10 cm) of corn was wrapped with aluminum foil. C: The infested soil was saturated with water and smeared on the basal stalk of corn.

[b]Percentage of diseased incidence=(No. diseased / No. inoculated) of plants×100%. The tested plants were inoculated 35 days after sowing and the data were taken 6 days after inoculation.

二、接種源濃度

以每克土含 *P. aphanidermatum* 3×10^1,3×10^2,3×10^3,及3×10^4個卵孢子的病土分別塗抹在供試玉米的莖基部，於高溫潮濕的環境下經過六日，其罹病率均達100%。表示在適宜的環境下，每克土雖僅數十個病原菌卵孢子即可使玉米罹病。

三、接種溫度

接種後之玉米置於氣溫25~35C（土溫爲23.6~26.6C），其罹病率約80%以上，氣溫20C以下則完全不罹病（表二）。

表二、溫度對玉米莖腐病罹病率之影響

Table 2. Effect of temperature on the incidence of Pythium stalk rot of corn

Temperature (C)	Percentage of disease incidence[a]			
	I	II	III	Mean
15(18.4)[b]	0	0	0	0
20(19.4)	0	0	0	0
25(23.6)	67	67	67	67
30(26.1)	100	100	100	100
35(26.6)	100	100	100	100

[a] Percentage of diseased incidence=(No. diseased / No. inoculated) of plants×100%. Tested plants were inoculated 35 days after sowing, and the data were taken 6 days after inoculation.

[b] Number in the parenthesis represented the temperature of the infested soil smeared on the corn stalk in that treatment.

四、接種株齡

接種不同株齡之供試玉米，得知株齡在30日以下，無論台農1號或台農351號，其罹病率均近 100 %。株齡40日以上，則罹病率顯著下降（表三）。本項試驗結果表示，*P. aphanidermatum* 易於感染幼齡的植株，植株愈成熟對本菌之抗性愈強。

表三、玉米不同品種及株齡對莖腐病發生之影響

Table 3. Effect of cultivars and ages of corn plants on the incidence of Pythium stalk rot

Cultivar	Percentage of disease incidence[a]					
	Days after sowing					
	10	20	30	40	50	60
TNG 1	88	100	100	25	0	0
TNG 351	100	100	100	38	0	0

[a] Percentage of diseased incidence=(No. diseased ／ No. inoculated) of plants×100%. The data were taken 6 days after inoculation.

五、接種期間

接種處理後之玉米於飽和濕室中，經1～4日，其罹病率有顯著的差異。在濕室中置1～2日者，完全不罹病；3日者罹病率達67%，4日者近90%（表四）。

表四、接種期間對玉米莖腐病罹病率之影響

Table 4. Effect of inoculation period on the incidence of Pythium stalk rot of corn[a]

Time (day)	Percentage of disease incidence[b]			
	I	II	III	Mean
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	67	67	33	56
4	100	100	67	89

[a] The inoculated plants were kept in greenhouse with temperature above 25°C and RH above 95%.

[b] Percentage of disease incidence=(No. diseased ／ No. inoculated) of plants×100%. The tested plants were inoculated 35 days after sowing, and the data were taken 3 days after inoculation period of each treatment.

討　論

P. aphanidermatum 爲土棲菌（soil inhabitant），對作物之危害亦以造成根腐（root rot）爲主（7,9）。但在玉米莖腐病的情況卻不相同。本研究發現，病原菌是以玉米的莖基部爲主要侵入點（infection site）。因此，如能採取保護玉米莖基部之措施，則本病之發生即可減少。杜氏等（1）建議玉米耕作時，採小培土，不培土或延後培土之方式以減輕本病之發生，即是符合這項特性。

人工接種作物時，罹病與否取決於接種源潛勢（inoculum potential）、接種期間（inoculation period）、植物的遺傳特性（genetic characteristics of plant）及接種環境（environments

of inoculation) (5) 。就接種源潛勢而言，本研究是以選擇性培養基所測得之可發芽卵孢子量來判定接種源潛勢，故所得即爲有效之接種源濃度。本菌在每克土30個卵孢子的含菌量下，即具致病力。此種濃度亦可於田間自然土中獲得（未發表資料）。由於本研究所採用之供試玉米品種爲台農1號，其生長勢較一般玉米品種（系）爲強，在生長至35日時，其株高較大部份供試品種（系）高出10～20cm。因此，對一般玉米品種（系）進行接種時，須視溫度條件，將接種日期延後5～10日，成爲40～45日。目的在使一半以上的供試玉米株高約達於一公尺時，始行接種；以免供試玉米於接種時，因組織過於幼嫩而罹病。至於高溫潮溼的環境則爲發病所必需。在建立玉米莖腐病抗病品種（系）之篩選方法時，綜合各項利於發病的條件得知，接種期間之長短顯著影響玉米罹病率之高低。在其他各項利於發病的條件配合下，將接種期間定爲3日最爲恰當。

杜氏等 (1) 曾對玉米不同品種（系）對莖腐病之抗感性進行試驗，其以帶菌玉米桿或設置病圃之接種方式在無傷口的情況下，其罹病株率均在30%以下，傷口接種亦約60%。由於其罹病率均較本研究所得者爲低而接種期間又長，抑且其接種時之操作及接種環境之控制亦較爲困難，對大規模之接種試驗尤不易進行。今爲簡化篩選程序，提高接種效率，本研究擬定之玉米抗莖腐病品種（系）篩選方法，係將供試玉米種子播於六吋素燒陶盆中，每盆3株，置於氣溫 24～36C之溫室中生長。待株齡40～45日，株高約1公尺時，將每克土含菌量爲30個卵孢子的病土加水至飽和含水量，然後塗抹在供試玉米的莖基部（0～10cm）。由於現有溫室設備無法控制相對濕度達於100%，爲保持接種病土的潮濕，可以鋁箔將接種部位包裹之。然後將供試玉米保持在氣溫25～35C之不通風且不斷之灑水的溫室中三日。再將其回復原來的生長環境，並經三日後，即可調查其罹病率。凡供試品種（系）之玉米全部倒伏者爲感病(S)，部份倒伏者爲中抗 (M)，全部未倒伏者爲抗病 (R)。依據這套接種方法先後測定七批不同品種（系）玉米計約 1100個，其抗，中抗，感之品種（系）比例分別爲42%，29%，29%（未發表資料）。

引用文獻

1. 杜金池、鄭安秀、曾建銘。1986。玉米莖腐病綜合防治研究。台南區農業改良場研究彙報 20：29—38。
2. 蔡武雄、段中漢、蔡淑珍、杜金池。1989。玉米莖腐病之抗病篩選方法。 植保會刊 31：402—403。（摘要）
3. Burr,T. J. and Stanghellini, M. E. 1973. Propagule nature and density of *Pythium aphanidermatum* in field soil. Phytopathology 63：1499—1501.
4. Christensen, J. J., and Wilcoxson, R. D. 1966. Stalk rot of corn. Monogr. 3, American Phytopathological society, St. Paul, MN. 59 pp.
5. Dhingra, C. D., and Sinclair, J. B. 1985. Basic plant pathology methods. CRC Press, INC, New York, 355 pp.
6. Diwakar, M. C., and Payak, M. M. 1976. Pythium Stalk rot of maize — mode of entry of the pathogen. Sci. Cult. 42：164—165.
7. Domsch, K. H., Gams, W., and Anderson, T. H. 1980. Compendium of soil fungi. Vol. I. Academic press. New York, 859 pp.
8. Elliot, C. 1943. A Pythium stalk rot of corn. J. Agric. Res. 66：21—39.
9. Gold, S. E., and Stanghellini, M. E. 1985. Effects of temperature on Pythium root rot of spinach grown under hydroponic conditions. Phytopathology 75：333—337.
10. Hendrix, F. F., Jr., and Campbell, W. A. 1973. Pythiums as plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 11：77—98.
11. Hine, R. B., and Ruppel, E. G. 1969. Relationship of soil temperature and moisture to sugarbeet root rot caused by *Pythium aphanidermatum* in Arizona. Plant Dis. 53：989—991.

12. Koehler, B. 1960. Corn stalk rots in Illinois. Ill. Agric. Exp. Stn. Bull. 658.

13. McCarter, S. M., and Littrell, R. H. 1970. Comparative pathogenicity of *Pythium aphanidermatum* and *Pythium myriotylum* to twelve plant species and intraspecific variation in virulence. Phytopathology 60 : 264—268.

14. Stanghellini, M. E., and Burr, T. J. 1973. Germination in vivo of *Pythium aphanidermatum* oospores and sporangia. Phytopathology 63 : 1493—1496.

15. Stanghellini, M. E., and Burr, T. J. 1973. Effect of soil water potential on disease incidence and oospore germination of *Pythium aphanidermatum.* Phytopathology 63 : 1496—1498.

16. Stanghellini, M. E., von Bretzel, P., Kronland, W. C., and Jenkins, A. D. 1982. Inoculum densities of *Pythium aphanidermatum* in soils of irrigated sugar beet fields in Arizona. Phytopathology 72 : 1481—1485.

17. Stanghellini, M. E., Stowell, L. J., Kronland, W. C., and von Bretzel, P. 1983. Distribution of *Pythium aphanidermatum* in rhizosphere soil and factors affecting expression of the absolute inoculum potential. Phytopathology 73 : 1463—1466.

18. Stanghellini, M. E., and Kronland, W. C. 1985. Bioassay for quantification of *Pythium aphanidermatum* in soil. Phytopathology 75 : 1242—1245.

19. Van Der Plaats-Nitorink, A. J. 1981. Monograph of the genus *Pythium,* Studies in Mycology No.21. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baam.

20. von Bretzel, P., Stanghellini, M. E., and Kronland, W. C.1988. Epidemiology of Pythium root rot of mature sugar beets. Plant Dis. 72 : 707—709.

A Method for Screening Resistance to Pythium Stalk Rot in Corn Cultivars[1]

W. H. Tsai, C. H. Duan and C. C. Tu[2]

Summary

An inoculation method for screening resistance to *Pythium* stalk rot *(Pythium aphanidermatum)* in corn cultivars was established in this study. Three seeds of each corn cultivar or line were sowed on a six-inch-pot and grown in a greenhouse at temperature between 24 and 36 C. After 40~45 days incubation until corn plants reached about 100 cm in height, they were used for inoculation. The artificial infested soil containing 30 oospores per gram of air−dry soil was saturated with water and smeared on the basal stalk (0~10 cm) of the tested plants. The inoculated site was wrapped with a piece of aluminum foil to keep the inoculum from drying out. The inoculated plants were incubated in the greenhouse with temperature at 25 to 35 C and relative humidity at 90% or more for three days. Thereafter, the environment was recovered to normal conditions for another three days. In general, cultivars (lines) susceptible to the fungus would readily lodge, whereas, those resistant ones stayed as healthy as non−inoculated plants. By this method, about 42% of 1100 tested corn cultivars (lines) were screened as resistant to Pythium stalk rot in our study.

Key Words : *Pythium aphanidermatum,* corn, Pythium stalk rot, resistant cultivar.

1. Contribution No. 1550 from Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported in part by grants from Council of Agriculture, Executive Yuan, ROC.

2. Senior Plant Pathologist, Assistant, and Director, respectively, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng 41301, Taichung County, Taiwan, ROC.